

日本国特許庁

PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

2000 4-2

01834/11G

JC978 U.S. PRO  
10/054300  
01/22/02

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年 7月22日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第207170号

出願人

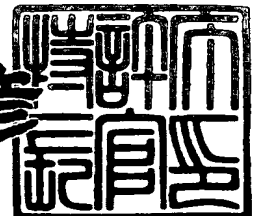
Applicant(s):

三共株式会社

2000年 6月 9日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

近藤 隆彦



出証番号 出証特2000-3043785

【書類名】 特許願  
【整理番号】 99105SY  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 C07H 19/06

【発明者】

【住所又は居所】 奈良県奈良市千代ヶ丘2丁目2-18  
【氏名】 今西 武

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府高槻市日吉台4-2034  
【氏名】 小比賀 聡

【特許出願人】

【識別番号】 000001856  
【氏名又は名称】 三共株式会社

【代理人】

【識別番号】 100081400  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 大野 彰夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100092716  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 中田 ▲やす▼雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100096666  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 室伏 良信

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 010216  
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9704937

【包括委任状番号】 9704935

【包括委任状番号】 9704936

【プルーフの要否】 要

【書類名】明細書

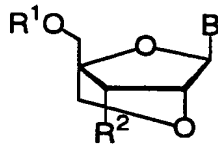
【発明の名称】新規ビスクロヌクレオシド類縁体

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式 (1)

【化 1】



(1)

[式中、

$R^1$ は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基の保護基を示し、

$R^2$ は、アジド基又は保護されていてもよいアミノ基を示し、

Bは、下記 $\alpha$ 群から選択される任意の置換基を1以上有していてもよいプリン-9-イル又はピリミジン-1-イル基を示す。]

である化合物又はその薬理上許容される塩。

( $\alpha$ 群)

ハロゲン原子、

炭素数1乃至6個のアルキル基、

保護されていてもよい水酸基、

保護されていてもよいメルカプト基、

保護されていてもよいアミノ基、

炭素数1乃至6個のアルコキシ基、

炭素数1乃至6個のアルキルチオ基、及び、

炭素数1乃至6個のアルキル基で置換された

モノ若しくはジアルキルアミノ基。

【請求項 2】

請求項 1 において、

$R^1$ が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、シリル基、1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、又は、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基である化合物又はその薬理上許容される塩。

【請求項3】

請求項1において、

$R^1$ が、水素原子、シリル基、1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基、又は、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基である化合物又はその薬理上許容される塩。

【請求項4】

請求項1において、

$R^1$ が、水素原子、トリメチルシリル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、*t*-ブチルジフェニルシリル基、ベンジル基、トリフェニルメチル基、4-メトキシベンジル基、4-メトキシフェニルジフェニルメチル基、4,4'-ジメトキシトリフェニルメチル基又は4,4',4''-トリメトキシトリフェニルメチル基である化合物又はその薬理上許容される塩。

【請求項5】

請求項1乃至4において、

$R^2$ が、アジド基、又は、脂肪族アシル基若しくは芳香族アシル基で保護されていてもよいアミノ基である化合物又はその薬理上許容される塩。

【請求項6】

請求項1乃至4において、

$R^2$ が、アジド基、又は、アセチル基、トリフルオロアセチル基若しくはベンゾイル基で保護されていてもよいアミノ基である化合物又はその薬理上許容される塩。

【請求項7】

請求項1乃至4において、

$R^2$ が、アジド基又はアミノ基である化合物又はその薬理上許容される塩。

## 【請求項 8】

請求項 1 乃至 7 において、

B が、アミノ基が保護されていてもよい 6-アミノプリン-9-イル（すなわち、アデニル）、アミノ基が保護されていてもよい 2, 6-ジアミノプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（すなわち、グアニル）、アミノ基が保護されていてもよい 6-アミノ-2-メトキシプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、メルカプト基が保護されていてもよい 6-メルカプトプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（すなわち、シトシル）、アミノ基が保護されていてもよい 4-アミノ-2-オキソ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が保護されていてもよい 4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、メルカプト基が保護されていてもよい 2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2, 4-ジヒドロキシピリミジン-1-イル（すなわち、ウラシル）、2, 4-ジヒドロキシ-5-メチルピリミジン-1-イル（すなわち、チミル）又はアミノ基が保護されていてもよい 4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基である化合物又はその薬理上許容される塩。

## 【請求項 9】

請求項 1 乃至 7 において、

B が、6-ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-ベンゾイルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニル、2-オキソ-4-ベン

ゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、ウラシニル又はチミニル基である化合物又はその薬理上許容される塩。

【請求項 1 0】

請求項 1 において、以下で表わされる化合物：

3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、

3'-アジド-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、又は、

3'-アジド-5'-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、抗エイズ活性を有する新規な修飾ヌクレオシド類縁体、及び、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定な非天然型の修飾オリゴヌクレオチドを製造するための新規な修飾ヌクレオシド類縁体に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定なオリゴヌクレオチドは、有用な医薬として期待される。

【0 0 0 3】

しかしながら、天然型オリゴヌクレオチドは、血液中や細胞内に存在する各種ヌクレアーゼにより、速やかに分解されてしまうことが知られている。

【0 0 0 4】

これらの欠点を克服すべく、種々の非天然型の修飾オリゴヌクレオチドが製造され、それらを医薬として、開発する試みがなされている。例えば、オリゴヌクレオチドのホスホジエステル結合内のリン原子と結合する酸素原子を硫黄原子に置換したもの、該酸素原子をメチル基に置換したもの、該酸素原子をホウ素原子に置換したもの、オリゴヌクレオチドの糖部分や塩基部分を化学修飾したもの等が知られている。また、I S I S 社は、ヒトサイトメガロウイルス性網膜炎の治

療薬として、チオエート型オリゴヌクレオチドである ISIS2922 を開発し、Vitravene<sup>TM</sup> として米国で販売している。

【0005】

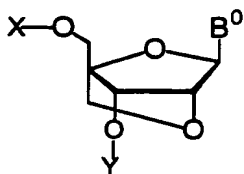
しかしながら、上記の非天然型の修飾オリゴヌクレオチドにおける、アンチセンス又はアンチジーン活性の強さ、すなわち、m-RNA 又は DNA との安定な相補鎖形成能や、各種ヌクレアーゼに対する安定性、生体内の各種蛋白質と非特異的に結合することによる副作用の発現等を考慮すると、さらに優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、生体内で安定で、かつ、副作用の発現の少ない非天然型の修飾オリゴヌクレオチドが望まれている。

【0006】

一方、本願化合物と関連する化学構造、すなわち、下記のアキサリシクロ [2,2,1] ヘプタン構造を有するものが、WO 98/39352 号に記載されているが、該化合物は、リボースの 3' 位における置換基において本願化合物と異なる。

【0007】

【化 2】



上記式中、 $B^0$  はピリミジンもしくはプリン核酸塩基又はそれらの類縁体であり、X 及び Y は同一もしくは異なり、水素、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アラルキル基、アリール基、アシル基、又はシリル基である。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、抗エイズ活性を有する新規な修飾ヌクレオシド類縁体を見出すこと、及び、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、生体内で安定で、副作用の発現の少ない非天然型の修飾オリゴヌクレオチドを製造するための

新規な修飾ヌクレオシド類縁体を見出すことにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明の発明者は、該課題を解決すべく、鋭意研究を続けた結果、2'-O,4'-C-メチレンを有する新規なビスクロヌクレオシド類縁体が、抗エイズ剤として有用であり、また、該修飾オリゴヌクレオチドを製造するための重要中間体として有用であることを見出し、本発明を完成した。

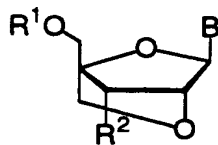
【0010】

本発明の新規なビスクロヌクレオシド類縁体は、

1) 一般式 (1)

【0011】

【化3】



(1)

[式中、

$R^1$ は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基の保護基を示し、

$R^2$ は、アジド基又は保護されていてもよいアミノ基を示し、

Bは、下記 $\alpha$ 群から選択される任意の置換基を1以上有していてもよいプリン-9-イル又はピリミジン-1-イル基を示す。]

である化合物又はその薬理上許容される塩である。

( $\alpha$ 群)

ハロゲン原子、

炭素数1乃至6個のアルキル基、

保護されていてもよい水酸基、

保護されていてもよいメルカプト基、

保護されていてもよいアミノ基、

炭素数1乃至6個のアルコキシ基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基、及び、  
炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換された  
モノ若しくはジアルキルアミノ基。

【0012】

本発明の化合物のうち、好適なものは、

- 2)  $R^1$  が、水素原子、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、シリル基、1 乃至 3 個のアリール基で置換されたメチル基、又は、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された 1 乃至 3 個のアリール基で置換されたメチル基である化合物、
- 3)  $R^1$  が、水素原子、シリル基、1 乃至 3 個のアリール基で置換されたメチル基、又は、低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された 1 乃至 3 個のアリール基で置換されたメチル基である化合物、
- 4)  $R^1$  が、水素原子、トリメチルシリル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、*t*-ブチルジフェニルシリル基、ベンジル基、トリフェニルメチル基、4-メトキシベンジル基、4-メトキシフェニルジフェニルメチル基、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル基又は 4, 4', 4''-トリメトキシトリフェニルメチル基である化合物、
- 5)  $R^2$  が、アジド基、又は、脂肪族アシル基若しくは芳香族アシル基で保護されていてもよいアミノ基である化合物、
- 6)  $R^2$  が、アジド基、又は、アセチル基、トリフルオロアセチル基若しくはベンゾイル基で保護されていてもよいアミノ基である化合物、
- 7)  $R^2$  が、アジド基又はアミノ基である化合物、
- 8) B が、アミノ基が保護されていてもよい 6-アミノプリン-9-イル（すなわち、アデニル）、アミノ基が保護されていてもよい 2, 6-ジアミノプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-アミノ-6-クロロプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-アミノ-6-フルオロプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-アミノ-6-ブロモプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい 2-アミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル（すなわち、グアニル）、アミノ基が保護されていてもよい 6-アミ

ノ-2-メトキシプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい6-アミノ-2-クロロプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル、2, 6-ジメトキシプリン-9-イル、2, 6-ジクロロプリン-9-イル、メルカプト基が保護されていてもよい6-メルカプトプリン-9-イル、アミノ基が保護されていてもよい2-オキソ-4-アミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル（すなわち、シトシニル）、アミノ基が保護されていてもよい4-アミノ-2-オキソ-5-フルオロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、アミノ基が保護されていてもよい4-アミノ-2-オキソ-5-クロロ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2-オキソ-4-メトキシ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、メルカプト基が保護されていてもよい2-オキソ-4-メルカプト-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、2, 4-ジヒドロキシピリミジン-1-イル（すなわち、ウラシリル）、2, 4-ジヒドロキシ-5-メチルピリミジン-1-イル（すなわち、チミニル）又はアミノ基が保護されていてもよい4-アミノ-5-メチル-2-オキソ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル基である化合物、

9) Bが、6-ベンゾイルアミノプリン-9-イル、アデニル、2-ベンゾイルアミノ-6-ヒドロキシプリン-9-イル、グアニル、2-オキソ-4-ベンゾイルアミノ-1, 2-ジヒドロピリミジン-1-イル、シトシニル、ウラシリル又はチミニル基である化合物、  
である。

#### 【0013】

これらのうち、更に好適な化合物は、

10) 3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、  
3'-アジド-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、又は、  
3'-アジド-5'-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン、  
である。

#### 【0014】

R<sup>1</sup>の定義における「水酸基の保護基」としては、例えば、ホルミル、アセチ

ル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、デカノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3, 7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、トリデカノイル、ヘキサデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13, 13-ジメチルテトラデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲノ低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基等の「脂肪族アシル基」；

ベンゾイル、 $\alpha$ -ナフトイル、 $\beta$ -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-ブロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲノアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」；

テトラヒドロピラン-2-イル、3-ブロモテトラヒドロピラン-2-イル、4-メトキシテトラヒドロピラン-4-イル、テトラヒドロチオピラン-2-イル、4-メトキシテトラヒドロチオピラン-4-イルのような「テトラヒドロピラニル又はテトラヒドロチオピラニル基」；テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロチオフラン-2-イルのような「テトラヒドロフラニル又はテトラヒドロチオフラニル基」；

トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジメチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、メチルジイソプロピルシリル、メチルジ-t-ブチルシリル

ル、トリイソプロピルシリルのようなトリ低級アルキルシリル基、ジフェニルメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、ジフェニルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリルのような1乃至2個のアリール基で置換されたトリ低級アルキルシリル基等の「シリル基」；

メトキシメチル、1，1-ジメチル-1-メトキシメチル、エトキシメチル、プロポキシメチル、イソプロポキシメチル、ブトキシメチル、*t*-ブトキシメチルのような「低級アルコキシメチル基」；

2-メトキシエトキシメチルのような「低級アルコキシ化低級アルコキシメチル基」；

2，2，2-トリクロロエトキシメチル、ビス（2-クロロエトキシ）メチルのような「ハロゲン低級アルコキシメチル」；

1-エトキシエチル、1-（イソプロポキシ）エチルのような「低級アルコキシ化エチル基」；

2，2，2-トリクロロエチルのような「ハロゲン化エチル基」；

ベンジル、 $\alpha$ -ナフチルメチル、 $\beta$ -ナフチルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、 $\alpha$ -ナフチルジフェニルメチル、9-アンスリルメチルのような「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」；

4-メチルベンジル、2，4，6-トリメチルベンジル、3，4，5-トリメチルベンジル、4-メトキシベンジル、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4，4'-ジメトキシトリフェニルメチル、4，4'，4''-トリメトキシトリフェニルメチル、2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、4-クロロベンジル、4-ブロモベンジル、4-シアノベンジルのような「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」；

メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、*t*-ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルのような「低級アルコキシカルボニル基」；

2，2，2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエトキシカルボニルのような「ハロゲン又はトリ低級アルキルシリル基で置換された低級アルコキシカルボニル基」；

ビニルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニルのような「アルケニルオキシカルボニル基」；

ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、3, 4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、4-ニトロベンジルオキシカルボニルのような1乃至2個の「低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニル基」をあげることができ、

好適には、「脂肪族アシル基」、「芳香族アシル基」、「シリル基」、「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」又は「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」であり、さらに好適には、「シリル基」、「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」又は「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン若しくはシアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」であり、特に好適には、トリメチルシリル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、*t*-ブチルジフェニルシリル基、ベンジル基、トリフェニルメチル基、4-メトキシベンジル基、4-メトキシフェニルジフェニルメチル基、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル基又は4, 4', 4''-トリメトキシトリフェニルメチル基である。

#### 【0015】

$R^2$ の定義における「保護されていてもよいアミノ基」とは、同一又は異なった1乃至2個の保護基で保護されていてもよいアミノ基のことであり、該「保護基」としては、例えば、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、デカノイル、8-メチルノナノイル、3-エチルオクタノイル、3, 7-ジメチルオクタノイル、ウンデカノイル、トリデカノイル、ヘキサデカノイル、14-メチルペンタデカノイル、13, 13-ジメチルテトラデカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリ

クロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲン低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基等の「脂肪族アシル基」；

ベンゾイル、 $\alpha$ -ナフトイル、 $\beta$ -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-ブロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲンアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；

2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」；

メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、t-ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニルのような「低級アルコキシカルボニル基」；

2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル、2-トリメチルシリルエトキシカルボニルのような「ハロゲン又はトリ低級アルキルシリル基で置換された低級アルコキシカルボニル基」；

ビニルオキシカルボニル、アリルオキシカルボニルのような「アルケニルオキシカルボニル基」；

ベンジルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、3, 4-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、2-ニトロベンジルオキシカルボニル、4-ニトロベンジルオキシカルボニルのような「1乃至2個の低級アルコキシ又はニトロ基でアリール環が置換されていてもよいアラルキルオキシカルボニル基」をあげることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、さらに好適には、アセチル基、トリフルオロアセチル基又はベンゾイル基である。

【0016】

$\alpha$  群の定義における「ハロゲン原子」としては、弗素原子、塩素原子、臭素原子又は沃素原子を挙げることができ、好適には、弗素原子、塩素原子である。

【0017】

$\alpha$  群の定義における「炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基」としては、例えば、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*s*-ブチル、イソブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ヘキシルのような炭素数 1 乃至 6 個の直鎖若しくは分枝鎖アルキル基を挙げることができ、好適にはメチル基又はエチル基である。

【0018】

$\alpha$  群の定義における「保護されていてもよい水酸基」の保護基としては、前記  $R^1$  の定義における「水酸基の保護基」で例示した基と同様の基を挙げることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、さらに好適には、ベンゾイル基である。

【0019】

$\alpha$  群の定義における「保護されていてもよいメルカプト基」の保護基としては、例えば、前記  $R^1$  の定義における「水酸基の保護基」としてあげたものの他、メチルチオ、エチルチオ、*tert*-ブチルチオのようなアルキルチオ基、ベンジルチオのようなアリールチオ基等の「ジスルフィドを形成する基」をあげることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、さらに、好適には、ベンゾイル基である。

【0020】

$\alpha$  群の定義における「保護されていてもよいアミノ基」の保護基としては、前記  $R^2$  の定義における「保護基」で例示した基と同様の基を挙げることができ、好適には、「脂肪族アシル基」又は「芳香族アシル基」であり、更に好適には、ベンゾイル基である。

【0021】

$\alpha$  群の定義における「炭素数 1 乃至 6 個のアルコキシ基」としては、例えば、メトキシ、エトキシ、*n*-プロポキシ、イソプロポキシ、*n*-ブトキシ、イソブトキシ、*s*-ブトキシ、*tert*-ブトキシ、ペンチルオキシ、ヘキシルオキシのよ

うな炭素数 1 乃至 6 個の直鎖若しくは分枝鎖アルコキシ基を挙げることができ、好適には、メトキシ又はエトキシ基である。

【0022】

$\alpha$  群の定義における「炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基」としては、例えば、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ、イソプロピルチオ、ブチルチオ、イソブチルチオ、s-ブチルチオ、tert-ブチルチオ、ペンチルチオ、ヘキシルチオ基を挙げることができ、好適には、メチルチオ又はエチルチオ基である。

【0023】

$\alpha$  群の定義における「炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換されたモノ若しくはジアルキルアミノ基」としては、例えば、メチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、ブチルアミノ、イソブチルアミノ、s-ブチルアミノ、tert-ブチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジプロピルアミノ、ジイソプロピルアミノ、ジブチルアミノ、ペンチルアミノ、ヘキシルアミノ、ジイソブチルアミノ、ジ(s-ブチル)アミノ、ジ(tert-ブチル)アミノ、ジペンチルアミノ、ジヘキシルアミノ基を挙げることができ、好適には、メチルアミノ、エチルアミノ、ジメチルアミノ又はジエチルアミノ基である。

【0024】

「その薬理上許容される塩」とは、本発明の化合物(1)は、塩にすることができるので、その塩をいい、そのような塩としては、好適には、弗化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、沃化水素酸塩のようなハロゲン化水素酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、磷酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルカンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩のようなアリールスルホン酸塩、酢酸塩、りんご酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、蔞酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩；及び、グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩を挙げることができる。

【0025】

また、本発明の化合物(1)は、大気中に放置しておくことにより、水分を吸

収し、吸着水が付いたり、水和物となる場合があり、そのような塩も本発明に包含される。

【0026】

さらに、本発明の化合物(1)は、他のある種の溶媒を吸収し、溶媒和物となる場合があるが、そのような塩も本発明に包含される。

【0027】

本発明の化合物(1)の具体例としては、例えば、下記表1及び表2に示すような化合物を挙げることができる。

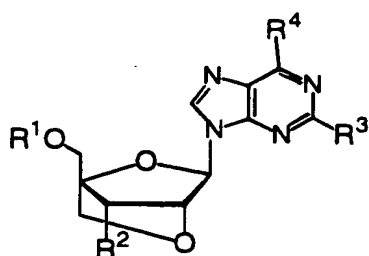
【0028】

表1及び表2中、

「Bn」は、ベンジル基、「Bz」は、ベンゾイル基、「Me」は、メチル基、「PMBn」は、p-メトキシベンジル基、「MMTr」は、4-メトキシトリフェニルメチル基、「DMTr」は、4,4'-ジメトキシトリフェニルメチル基、「TMTTr」は、4,4',4"-トリメトキシトリフェニルメチル基、「TMS」は、トリメチルシリル基、「TBDMS」は、tert-ブチルジメチルシリル基、「TBDPS」は、tert-ブチルジフェニルシリル基を示す。

【0029】

【化4】



(1')

【0030】

【表1】

-----  
例示化合物

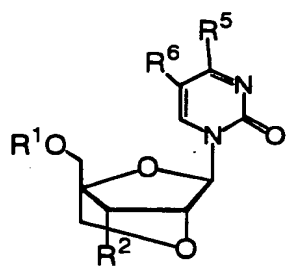
番 号	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>
1-1	H	NH <sub>2</sub>	H	H
1-2	H	NH <sub>2</sub>	H	OH
1-3	H	NH <sub>2</sub>	H	SH
1-4	H	NH <sub>2</sub>	H	NH <sub>2</sub>
1-5	H	NH <sub>2</sub>	H	OMe
1-6	H	NH <sub>2</sub>	F	H
1-7	H	NH <sub>2</sub>	F	NH <sub>2</sub>
1-8	H	NH <sub>2</sub>	Cl	H
1-9	H	NH <sub>2</sub>	Cl	NH <sub>2</sub>
1-10	H	NH <sub>2</sub>	Cl	Cl
1-11	H	NH <sub>2</sub>	Br	H
1-12	H	NH <sub>2</sub>	Br	NH <sub>2</sub>
1-13	H	NH <sub>2</sub>	OH	H
1-14	H	NH <sub>2</sub>	OH	OH
1-15	H	NH <sub>2</sub>	OH	NH <sub>2</sub>
1-16	H	NH <sub>2</sub>	OMe	OMe
1-17	H	NH <sub>2</sub>	OMe	NH <sub>2</sub>
1-18	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	H
1-19	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	F
1-20	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	Cl
1-21	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	Br
1-22	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	OH
1-23	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
1-24	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	OMe
1-25	H	N <sub>3</sub>	H	H
1-26	H	N <sub>3</sub>	H	OH
1-27	H	N <sub>3</sub>	H	SH

1-28	H	N <sub>3</sub>	H	NH <sub>2</sub>
1-29	H	N <sub>3</sub>	H	OMe
1-30	H	N <sub>3</sub>	F	H
1-31	H	N <sub>3</sub>	F	NH <sub>2</sub>
1-32	H	N <sub>3</sub>	Cl	H
1-33	H	N <sub>3</sub>	Cl	NH <sub>2</sub>
1-34	H	N <sub>3</sub>	Cl	Cl
1-35	H	N <sub>3</sub>	Br	H
1-36	H	N <sub>3</sub>	Br	NH <sub>2</sub>
1-37	H	N <sub>3</sub>	OH	H
1-38	H	N <sub>3</sub>	OH	OH
1-39	H	N <sub>3</sub>	OH	NH <sub>2</sub>
1-40	H	N <sub>3</sub>	OMe	OMe
1-41	H	N <sub>3</sub>	OMe	NH <sub>2</sub>
1-42	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	H
1-43	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	F
1-44	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	Cl
1-45	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	Br
1-46	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	OH
1-47	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
1-48	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	OMe
1-49	H	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-50	H	NH <sub>2</sub>	H	NHBz
1-51	H	N <sub>3</sub>	Cl	NHBz
1-52	H	N <sub>3</sub>	OH	NHBz
1-53	H	N <sub>3</sub>	OMe	NHBz
1-54	H	N <sub>3</sub>	NHBz	H
1-55	H	N <sub>3</sub>	NHBz	Cl
1-56	H	N <sub>3</sub>	NHBz	OH

1-57	H	NH <sub>2</sub>	NHBz	OH
1-58	H	N <sub>3</sub>	NHBz	NHBz
1-59	H	N <sub>3</sub>	NHBz	OMe
1-60	Bn	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-61	Bn	N <sub>3</sub>	NHBz	OH
1-62	PMBn	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-63	PMBn	N <sub>3</sub>	NHBz	OH
1-64	MMTr	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-65	MMTr	N <sub>3</sub>	NHBz	OH
1-66	DMTr	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-67	DMTr	N <sub>3</sub>	NHBz	OH
1-68	TMTr	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-69	TMTr	N <sub>3</sub>	NHBz	OH
1-70	TMS	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-71	TMS	N <sub>3</sub>	NHBz	OH
1-72	TBDMS	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-73	TBDMS	N <sub>3</sub>	NHBz	OH
1-74	TBDPS	N <sub>3</sub>	H	NHBz
1-75	TBDPS	N <sub>3</sub>	NHBz	OH

【 0 0 3 1 】

【化 5】



(1<sup>''</sup>)

【0 0 3 2】

【表 2】

例示化合物

番 号	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>5</sup>	R <sup>6</sup>
2-1	H	NH <sub>2</sub>	H	H
2-2	H	NH <sub>2</sub>	Cl	H
2-3	H	NH <sub>2</sub>	OH	H
2-4	H	NH <sub>2</sub>	OH	Me
2-5	H	NH <sub>2</sub>	SH	H
2-6	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	H
2-7	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	F
2-8	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	Cl
2-9	H	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	Me
2-10	H	NH <sub>2</sub>	OMe	H
2-11	H	N <sub>3</sub>	H	H
2-12	H	N <sub>3</sub>	Cl	H
2-13	H	N <sub>3</sub>	OH	H
2-14	H	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-15	H	N <sub>3</sub>	SH	H
2-16	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	H
2-17	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	F
2-18	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	Cl
2-19	H	N <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	Me
2-20	H	N <sub>3</sub>	OMe	H
2-21	H	N <sub>3</sub>	NHBz	H
2-22	H	NH <sub>2</sub>	NHBz	H
2-23	H	N <sub>3</sub>	NHBz	F

2-24	H	N <sub>3</sub>	NHBz	Cl
2-25	H	N <sub>3</sub>	NHBz	Me
2-26	Bn	N <sub>3</sub>	OH	H
2-27	Bn	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-28	Bn	N <sub>3</sub>	NHBz	H
2-29	PMBn	N <sub>3</sub>	OH	H
2-30	PMBn	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-31	PMBn	N <sub>3</sub>	NHBz	H
2-32	MMTr	N <sub>3</sub>	OH	H
2-33	MMTr	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-34	MMTr	N <sub>3</sub>	NHBz	H
2-35	DMTr	N <sub>3</sub>	OH	H
2-36	DMTr	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-37	DMTr	N <sub>3</sub>	NHBz	H
2-38	TMTr	N <sub>3</sub>	OH	H
2-39	TMTr	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-40	TMTr	N <sub>3</sub>	NHBz	H
2-41	TMS	N <sub>3</sub>	OH	H
2-42	TMS	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-43	TMS	N <sub>3</sub>	NHBz	H
2-44	TBDMS	N <sub>3</sub>	OH	H
2-45	TBDMS	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-46	TBDMS	N <sub>3</sub>	NHBz	H
2-47	TBDPS	N <sub>3</sub>	OH	H
2-48	TBDPS	N <sub>3</sub>	OH	Me
2-49	TBDPS	N <sub>3</sub>	NHBz	H

上記表中、好ましい化合物としては、化合物番号1-3、1-4、1-7、1-9、1-10、

1-16、1-17、1-19、1-20、1-21、1-22、1-23、1-27、1-28、1-31、1-33、1-34、  
1-40、1-41、1-43、1-44、1-45、1-46、1-47、1-49、1-50、1-56、1-57、2-3、2  
-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、2-13、2-14、2-15、2-16、2-17、2-18、2  
-19、2-20、2-21、2-22及び2-48の化合物が挙げられ、

更に好ましい化合物としては、化合物番号1-4、1-22、1-28、1-46、1-49、1-50  
、1-56、1-57、2-3、2-4、2-6、2-13、2-14、2-16、2-21、2-22、及び2-48の化  
合物が挙げられ、

最も好ましい化合物としては、

化合物番号2-4 : 3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジ  
ン、

化合物番号2-14 : 3'-アジド-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジ  
ン、及び、

化合物番号2-48 : 3'-アジド-5'-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-2  
'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン  
が挙げられる。

【 0 0 3 3 】

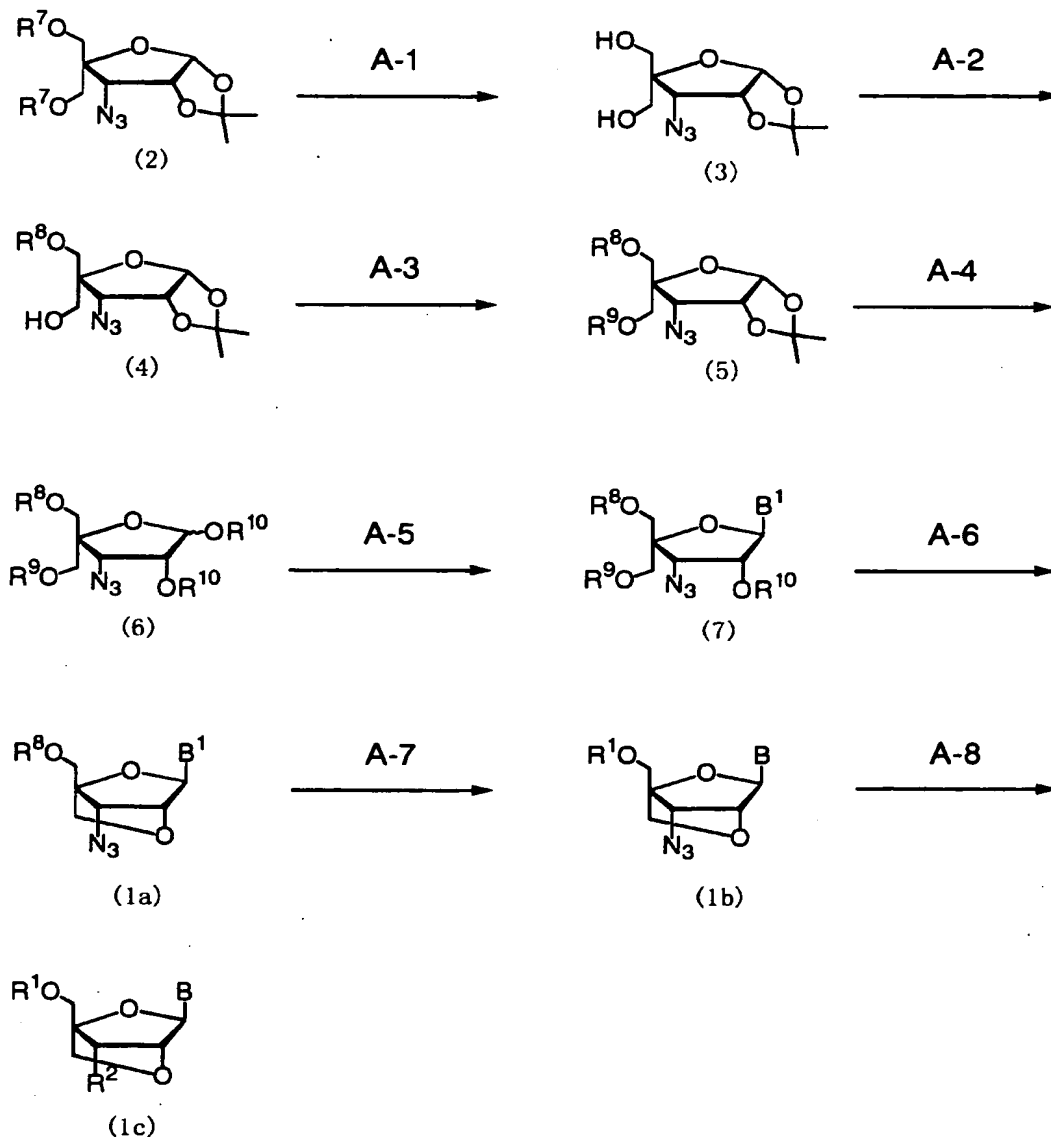
【発明の実施の形態】

本発明の化合物（1）は、以下に記載するA法により、製造することができる

【 0 0 3 4 】

【化 6】

A 法



上記工程表中、 $R^1$ 、 $R^2$ 及び $B$ は、前述と同意義である。

【0035】

$R^7$ は、水酸基の保護基を示し、好適には、ベンゾイル、 $\alpha$ -ナフトイル、 $\beta$ -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2,4,6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」であり、更に好適には、ベンゾイル基である。

【0036】

R<sup>8</sup>は、水酸基の保護基を示し、好適には、トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジメチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、メチルジイソプロピルシリル、メチルジ-*t*-ブチルシリル、トリイソプロピルシリルのようなトリ低級アルキルシリル基、ジフェニルメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、ジフェニルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリルのような1乃至2個のアリール基で置換されたトリ低級アルキルシリル基等の「シリル基」；

ベンジル、 $\alpha$ -ナフチルメチル、 $\beta$ -ナフチルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、 $\alpha$ -ナフチルジフェニルメチル、9-アンスリルメチルのような「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」；

4-メチルベンジル、2, 4, 6-トリメチルベンジル、3, 4, 5-トリメチルベンジル、4-メトキシベンジル、4-メトキシフェニルジフェニルメチル、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル、4, 4', 4''-トリメトキシトリフェニルメチル、2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル、4-クロロベンジル、4-ブロモベンジル、4-シアノベンジルのような「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」であり、更に好適には、トリメチルシリル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、*t*-ブチルジフェニルシリル基、ベンジル基、トリフェニルメチル基、4-メトキシベンジル基、4-メトキシフェニルジフェニルメチル基、4, 4'-ジメトキシトリフェニルメチル基又は4, 4', 4''-トリメトキシトリフェニルメチル基である。

#### 【0037】

R<sup>9</sup>は、脱離基を示し、好適には、メタンスルホニル、エタンスルホニルのような低級アルキルスルホニル基、トリフルオロメタンスルホニルのような、ハロゲン置換低級アルキルスルホニル基、*p*-トルエンスルホニルのようなアリールスルホニル基であり、更に好適には、メタンスルホニル又は

*p*-トルエンスルホニル基である。

#### 【0038】

R<sup>10</sup>は、水酸基の保護基を示し、好適には、ホルミル、アセチル、プロピオニ

ル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、オクタノイル、デカノイル、1-メチルヘプタデカノイル、ノナデカノイル、アイコサノイル及びヘナイコサノイルのようなアルキルカルボニル基、スクシノイル、グルタロイル、アジポイルのようなカルボキシ化アルキルカルボニル基、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルのようなハロゲン低級アルキルカルボニル基、メトキシアセチルのような低級アルコキシ低級アルキルカルボニル基、(E)-2-メチル-2-ブテノイルのような不飽和アルキルカルボニル基等の「脂肪族アシル基」；

ベンゾイル、 $\alpha$ -ナフトイル、 $\beta$ -ナフトイルのようなアリールカルボニル基、2-ブロモベンゾイル、4-クロロベンゾイルのようなハロゲンアリールカルボニル基、2, 4, 6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイルのような低級アルキル化アリールカルボニル基、4-アニソイルのような低級アルコキシ化アリールカルボニル基、2-カルボキシベンゾイル、3-カルボキシベンゾイル、4-カルボキシベンゾイルのようなカルボキシ化アリールカルボニル基、4-ニトロベンゾイル、2-ニトロベンゾイルのようなニトロ化アリールカルボニル基；2-(メトキシカルボニル)ベンゾイルのような低級アルコキシカルボニル化アリールカルボニル基、4-フェニルベンゾイルのようなアリール化アリールカルボニル基等の「芳香族アシル基」であり、更に好適には、「脂肪族アシル基」であり、特に好適には、アセチル基である。

#### 【0039】

B<sup>1</sup>は、下記 $\alpha$ 1群から選択される任意の置換基を1以上有していてもよいプリン-9-イル又はピリミジン-1-イル基を示す。

( $\alpha$ 1群)

ハロゲン原子、

炭素数1乃至6個のアルキル基、

保護されていてもよい水酸基、

保護されていてもよいメルカプト基、

保護されたアミノ基、

炭素数1乃至6個のアルコキシ基、

炭素数 1 乃至 6 個のアルキルチオ基、及び、  
炭素数 1 乃至 6 個のアルキル基で置換された  
モノ若しくはジアルキルアミノ基。

【0040】

A法は、化合物(2)を出発原料にして、置換基Bを導入してから環化を行なって、目的化合物(1a)、(1b)及び(1c)を得る方法である。

【0041】

ここで、原料化合物(2)は、市販のジアセトン-D-グルコースを出発原料にして、文献(O. T. Schmidt, *Methods in Carbohydr. Chem.*, 4, 318 (1964); J. S. Brimacombe and O. A. Ching, *Carbohydr. Res.*, 8, 82 (1968); T. F. Tam and B. Fraser-Reid, *Can. J. Chem.*, 57, 2818 (1979); S. A. Suzhkov, *Nucleosides & Nucleotides*, 13, 2283 (1994))の方法に準じて製造することができる。

【0042】

以下A法の各工程について、詳細に説明する。

【0043】

A法

(A-1工程)

本工程は、不活性溶剤中、塩基の存在下、原料化合物(2)の一級水酸基の保護基を脱保護して、化合物(3)を製造する工程である。

【0044】

使用される溶剤としては、通常の加水分解反応に使用されるものであれば特に限定はなく、例えば、水；メタノール、エタノール、n-プロパノールのようなアルコール類、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類等の有機溶媒又は水と上記有機溶媒との混合溶媒が用いられ、好適には、アルコール類である。

【0045】

使用される塩基としては、化合物の他の部分に影響を与えないものであれば特に限定はないが、好適には、ナトリウムメトキシドのような金属アルコキシド類

；炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸リチウムのようなアルカリ金属炭酸塩；水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化バリウムのようなアルカリ金属水酸化物又はアンモニア水、濃アンモニア－メタノールのようなアンモニア類が用いられ、好適には、アルカリ金属炭酸塩である。

## 【0046】

反応温度及び反応時間は、出発物質、溶媒及び使用される塩基等により異なり特に限定はないが、副反応を抑制するために、通常は0℃乃至150℃で、1乃至10時間実施される。

## 【0047】

反応終了後、本反応の目的化合物（3）は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応液を中和し、反応混合物を濃縮し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

## 【0048】

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

## 【0049】

## （A-2工程）

本工程は、不活性溶剤中、塩基の存在下、A-1工程で得られる化合物（3）に水酸基の保護化剤を反応させて、化合物（4）を製造する工程である。

## 【0050】

使用される溶剤としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解するものであれば特に限定はないが、例えば、ヘキサン、ヘプタンのような脂肪族炭化水素類；ベンゼン、トルエン、キシレンのような芳香族炭化水素類；メチレンクロリド、クロロホルム、四塩化炭素、ジクロロエタン、クロロベンゼン、ジクロロベンゼンのようなハロゲン化炭化水素類；蟻酸エチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチル、炭酸ジエチルのようなエステル類；ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテルのようなエーテル類；アセトニトリル、イソ

ブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類を挙げることができるが、好適には、メチレンクロリドである。

## 【0051】

使用される塩基としては、通常の反応において塩基として使用されるものであれば、特に限定はないが、例えば、N-メチルモルホリン、トリエチルアミン、トリブチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N-メチルピペリジン、ピリジン、4-ピロリジノピリジン、ピコリン、4-(N，N-ジメチルアミノ)ピリジン、2，6-ジ(tert-ブチル)-4-メチルピリジン、キノリン、N，N-ジメチルアニリン、N，N-ジエチルアニリンのような有機塩基類を挙げることができるが、好適には、トリエチルアミンである。

## 【0052】

使用される保護化剤としては、例えば、t-ブチルジメチルシリルクロリド、トリメチルシリルクロリド、トリエチルシリルクロリド、トリエチルシリルブロミド、トリエイソプロピルシリルクロリド、ジメチルイソプロピルシリルクロリド、ジエチルイソプロピルシリルクロリド、t-ブチルジフェニルシリルクロリド、ジフェニルメチルシリルクロリド、トリフェニルシリルクロリドのようなシリルハライド類、4-メトキシトリフェニルメチルクロリド、4,4'-ジメトキシトリフェニルメチルクロリド、4,4',4''-トリメトキシトリフェニルメチルクロリドのようなトリチルハライド類、ベンジルクロリド、ベンジルブロミド、p-メトキシベンジルブロミドのようなアラルキルハライド類を挙げることができ、好適には、t-ブチルジフェニルシリルクロリドである。

## 【0053】

反応温度は、通常、-20℃乃至使用する溶媒の還流温度で行なわれるが、好適には、0℃乃至使用する溶媒の還流温度である。

## 【0054】

反応時間は、主に反応温度、原料化合物、使用される塩基又は使用される溶媒の種類によって異なるが、通常、10分間乃至3日間であり、好適には、1時間

乃至 24 時間である。

【0055】

反応終了後、本反応の目的化合物（4）は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応液を中和し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

【0056】

得られた化合物は、必要ならば、特に、望ましくない水酸基に  $R^8$  が導入された化合物が生じた場合には、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

【0057】

（A-3 工程）

本工程は、不活性溶剤中、塩基触媒の存在下、A-2 工程で得られる化合物（4）に脱離基導入試薬を反応させて、化合物（5）を製造する工程である。

【0058】

使用される溶剤としては、例えば、ヘキサン、ヘプタン、リグロイン、石油エーテルのような脂肪族炭化水素類；ベンゼン、トルエン、キシレンのような芳香族炭化水素類；メチレンクロリド、クロロホルム、四塩化炭素、ジクロロエタン、クロロベンゼン、ジクロロベンゼンのようなハロゲン化炭化水素類；蟻酸エチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチル、炭酸ジエチルのようなエステル類；ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテルのようなエーテル類；アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、イソホロン、シクロヘキサノンのようなケトン類；ニトロエタン、ニトロベンゼンのようなニトロ化合物類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホトリアミドのようなアミド類；スルホランのようなスルホキシド類；ピリジン類を挙げることができるが、好適には、メチレンクロリドである。

【0059】

使用される塩基触媒としては、好適には、トリエチルアミン、ピリジン、ジメチルアミノピリジンのような塩基である。

【0060】

使用される脱離基導入試薬としては、例えば、メタンスルホニルクロリド、エタンスルホニルブロミドのようなアルキルスルホニルハライド類；p-トルエンスルホニルクロリドのようなアリールスルホニルハライド類を挙げることができ、好適には、メタンスルホニルクロリド及びp-トルエンスルホニルクロリドである。

【0061】

反応温度は、使用される原料化合物、溶剤、脱離基導入試薬、塩基触媒により異なるが、通常、0℃乃至50℃であり、好適には、10℃乃至40℃である。

【0062】

反応時間は、使用される原料化合物、溶剤、脱離基導入試薬、塩基触媒、反応温度により異なるが、通常、10分乃至24時間であり、好適には、1乃至15時間である。

【0063】

反応終了後、本反応の目的化合物（5）は、常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応液を中和し、反応混合物を濃縮し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

【0064】

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

【0065】

（A-4工程）

本工程は、溶剤中、酸触媒の存在下、A-3工程で得られる化合物（5）に酸無水物を反応させて、化合物（6）を製造する工程である。

【0066】

使用される溶剤としては、例えば、ジエチルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフランのようなエーテル類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホトリアミドのようなアミド類；酢酸のような有機酸等を挙げることができるが、好適には、酢酸である。

【0067】

使用される酸触媒としては、例えば、塩酸、硫酸、硝酸等の無機酸をあげることができるが、好適には、硫酸（特に、濃硫酸）である。

【0068】

使用される酸無水物としては、例えば、無水酢酸、無水プロピオン酸等の低級脂肪族カルボン酸の無水物を挙げることができるが、好適には、無水酢酸である。

【0069】

反応温度は、使用される原料化合物、溶剤、酸触媒、酸無水物により異なるが、通常、0℃乃至50℃であり、好適には、10乃至40℃である。

【0070】

反応時間は、使用される原料化合物、溶剤、酸触媒、酸無水物、反応温度により異なるが、通常、10分乃至12時間であり、好適には、30分乃至6時間である。

【0071】

反応終了後、本反応の目的化合物（6）は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

【0072】

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

【0073】

## (A-5 工程)

本工程は、不活性溶剤中、酸触媒の存在下、A-4 工程で得られる化合物 (6) に、文献 (H. Vorbrueggen, K. Krolukiewicz and B. Bennua, Chem. Ber., 114, 1234-1255 (1981)) に従って調製した、所望の置換基を有していてもよいプリン又はピリミジンに対応するトリメチルシリル化体を反応させて、化合物 (7) を製造する工程である。

## 【0074】

使用される溶剤としては、ベンゼン、トルエン、キシレンのような芳香族炭化水素類；メチレンクロリド、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタン、クロロベンゼン、ジクロロベンゼンのようなハロゲン化炭化水素類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類；硫化炭素等を挙げることができるが、好適には、1,2-ジクロロエタンである。

## 【0075】

使用される酸触媒としては、例えば、 $\text{AlCl}_3$ 、 $\text{SnCl}_4$ 、 $\text{TiCl}_4$ 、 $\text{ZnCl}_2$ 、 $\text{BF}_3$ 、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリルのようなルイス酸触媒等をあげることができ、好適には、四塩化スズ ( $\text{SnCl}_4$ ) である。

## 【0076】

反応温度は、使用される原料化合物、溶剤、酸触媒により異なるが、通常、0 乃至 100℃ であり、好適には、30℃ 乃至 80℃ である。

## 【0077】

反応時間は、使用される原料化合物、溶剤、酸触媒、反応温度により異なるが、通常、1 時間乃至 3 日間であり、好適には、1 時間乃至 2 日間である。

## 【0078】

反応終了後、本反応の目的化合物 (7) は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応液を中和し、水と酢酸エチル若しくは塩化メチレンのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水

硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

【0079】

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

【0080】

(A-6工程)

本工程は、不活性溶剤中、塩基触媒の存在下、A-5工程で得られる化合物(7)を環化して、化合物(1a)を製造する工程である。

【0081】

使用される溶剤としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解するものであれば特に限定はないが、好適には、メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、n-ブタノール、イソブタノール、t-ブタノール、イソアミルアルコール、ジエチレングリコール、グリセリン、オクタノール、シクロヘキサノール、メチルセロソルブのようなアルコール類を挙げることができるが、更に好適には、メタノールである。

【0082】

使用される塩基触媒としては、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムのようなアルカリ金属水酸化物；炭酸ナトリウム、炭酸カリウムのようなアルカリ金属炭酸塩；ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシドのようなアルカリ金属アルコキシド；アンモニア水等をあげることができ、好適には、アルカリ金属炭酸塩であり、更に好適には炭酸カリウムである。

【0083】

反応温度は、使用される原料化合物、溶剤、塩基触媒により異なるが、通常、0℃乃至50℃であり、好適には、10℃乃至30℃である。

【0084】

反応時間は、使用される原料化合物、溶剤、塩基触媒、反応温度により異なるが、通常、1時間乃至3日間であり、好適には、3時間乃至2日間である。

【0085】

反応終了後、本反応の目的化合物(1a)は、常法に従って、反応混合物から

採取される。例えば、反応混合物を濃縮し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

【0086】

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

【0087】

(A-7工程)

本工程は、不活性溶剤中、A-6工程で得られる化合物(1a)に脱保護試薬を反応させて、化合物(1b)を製造する工程である。但し、脱保護が不要な場合は、本工程を行わないで次の工程に進むこともできる。

【0088】

脱保護の方法は、保護基の種類によって異なるが、他の副反応を生じない方法であれば、特に限定はなく、例えば、"Protective Groups in Organic Synthesis" (Theodora W. Greene著、1981年、A Wiley-Interscience Publication発行)に記載の方法によって、行うことができる。

また、異なる種類の保護基が複数個存在している場合は、これらの方法を適宜組み合わせて、順次脱保護を行なうことができる。

【0089】

特に、保護基が、(1)「脂肪族アシル基又は芳香族アシル基」、(2)「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」又は「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」、(3)「シリル基」の場合には、以下の方法により行うことができる。

【0090】

(1) 脂肪族アシル基及び芳香族アシル基の場合は、通常、不活性溶剤中、塩基を反応して行う。

【0091】

使用される溶剤としては、通常の加水分解反応に使用されるものであれば特に

限定はなく、例えば、水；メタノール、エタノール、*n*-プロパノールのようなアルコール類、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類等の有機溶媒又は水と上記有機溶媒との混合溶媒が用いられ、好適には、アルコール類である。

## 【0092】

使用される塩基としては、化合物の他の部分に影響を与えないものであれば特に限定はないが、好適には、ナトリウムメトキシドのような金属アルコキシド類；炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸リチウムのようなアルカリ金属炭酸塩；水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化バリウムのようなアルカリ金属水酸化物又はアンモニア水、濃アンモニア-メタノールのようなアンモニア類が用いられ、好適には、アルカリ金属炭酸塩である。

## 【0093】

反応温度及び反応時間は、出発物質、溶媒及び使用される塩基等により異なり特に限定はないが、副反応を抑制するために、通常は0℃乃至150℃で、1乃至10時間実施される。

## 【0094】

反応終了後、本反応の目的化合物(1b)は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を濃縮し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は必要ならば常法、例えば、再結晶またはシリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

## 【0095】

(2) 保護基が「1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」又は「低級アルキル、低級アルコキシ、ハロゲン、シアノ基でアリール環が置換された1乃至3個のアリール基で置換されたメチル基」の場合には、不活性溶剤中、還元剤を用いて行う。

## 【0096】

使用される溶剤としては、好適には、メタノール、エタノール、イソプロパノール

ールのようなアルコール類；ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類；トルエン、ベンゼン、キシレンのような芳香族炭化水素類；ヘキサン、シクロヘキサンのような脂肪族炭化水素類；酢酸エチル、酢酸プロピルのようなエステル類；酢酸のような有機酸類又はこれらの有機溶媒と水との混合溶媒を挙げることができる。

【0097】

使用される還元剤としては、通常、接触還元反応に使用されるものであれば特に限定はないが、好適には、パラジウム炭素、ラネーニッケル、酸化白金、白金黒、ロジウム-酸化アルミニウム、トリフェニルホスフィン-塩化ロジウム、パラジウム-硫酸バリウムを挙げることができる。

【0098】

圧力は、特に限定はないが、通常1乃至10気圧で行なわれる。

【0099】

反応温度は、0℃乃至60℃であり、好適には、20乃至40℃である。

【0100】

反応時間は、10分乃至24時間であり、好適には、1乃至3時間である。

【0101】

反応終了後、本反応の目的化合物(1b)は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物から、還元剤を除去し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

【0102】

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

【0103】

「3個のアリール基で置換されたメチル基」、すなわち、トリチル基の場合は酸を用いて行うこともできる。

【0104】

その場合に、使用する溶剤としては、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン

のような芳香族炭化水素類；メチレンクロリド、クロロホルム、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタン、クロロベンゼン、ジクロロベンゼンのようなハロゲン化炭化水素類；メタノール、エタノール、イソプロパノール、tert-ブタノールのようなアルコール類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；ホルムアミド、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、N-メチルピロリジノン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類；酢酸のような有機酸類を挙げることができ、好適には、有機酸（特に、酢酸）又はアルコール類（特に、tert-ブタノール）である。

【0105】

使用する酸としては、好適には、酢酸又はトリフルオロ酢酸である。

【0106】

反応温度は、0℃乃至60℃であり、好適には、20乃至40℃である。

【0107】

反応時間は、10分乃至24時間であり、好適には、1乃至3時間である。

【0108】

反応終了後、本反応の目的化合物（1b）は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を中和し、水と酢酸エチルのような混和しない有機溶剤を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸ナトリウム等で乾燥後、溶剤を留去することで得られる。

得られた化合物は、必要ならば、常法、例えば、再結晶、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等によって更に精製できる。

【0109】

（3）保護基が、「シリル基」の場合は、通常、弗化テトラブチルアンモニウム、弗化水素酸、弗化水素酸-ピリジン、弗化カリウムのような弗素アニオンを生成する化合物で処理するか、又は、酢酸、メタンスルホン酸、パラトルエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸、トリフルオロメタンスルホン酸のような有機酸又は塩酸のような無機酸で処理することにより除去できる。

【0110】

尚、弗素アニオンにより除去する場合に、蟻酸、酢酸、プロピオン酸のような有機酸を加えることによって、反応が促進することがある。

## 【0111】

使用される溶剤としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解するものであれば特に限定はないが、好適には、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテルのようなエーテル類；アセトニトリル、イソブチロニトリルのようなニトリル類；水；酢酸のような有機酸及びこれらの混合溶媒を挙げることができる。

## 【0112】

反応温度は、0℃乃至100℃であり、好適には、20乃至70℃である。

## 【0113】

反応時間は、5分乃至48時間であり、好適には、1乃至24時間である。

## 【0114】

反応終了後、本反応の目的化合物(1b)は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、溶剤を留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製することで得られる。

## 【0115】

## (A-8工程)

本工程は、不活性溶剤中、水素及び触媒の存在下、A-7工程で得られる化合物(1b)のアジド基をアミノ基に還元して、また、所望により、そのアミノ基を保護して、化合物(1c)を製造する工程である。

## 【0116】

使用される溶剤としては、本反応に関与しないものであれば特に限定はないが、好適には、メタノール、エタノール、イソプロパノールのようなアルコール類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類、トルエン、ベンゼン、キシレンのような芳香族炭化水素類、ヘキサン、シクロヘキサンのような脂肪族炭化水素類、酢酸エチル、酢酸プロピルのようなエステル類、ホルムアミド、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチル-

2-ピロリドン、ヘキサメチルホスホロトリアミドのようなアミド類、蟻酸、酢酸のような脂肪酸類、水、又はこれらの混合溶剤が用いられる。

【0117】

使用される触媒としては、通常、接触還元反応に使用されるものであれば、特に限定はないが、好適には、パラジウム炭素、パラジウム黒、ラネーニッケル、酸化白金、白金黒、ロジウム-酸化アルミニウム、トリフェニルホスフィン-塩化ロジウム、パラジウム-硫酸バリウムが用いられる。

【0118】

圧力は、特に限定はないが、通常 1 乃至 10 気圧で行なわれる。

【0119】

反応温度及び反応時間は、出発物質、溶媒及び触媒の種類等により異なるが、通常、0℃乃至100℃（好適には、20℃乃至40℃）、5分乃至48時間（好適には、30分間乃至10時間）である。

【0120】

反応終了後、本反応の目的化合物（1c）は、常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、ろ過により触媒を除去し、溶剤を留去することによって得られる。

【0121】

ここで、所望により、前述の文献（Protective Groups in Organic Synthesis）に記載の方法に従って、アミノ基を保護することもできる。

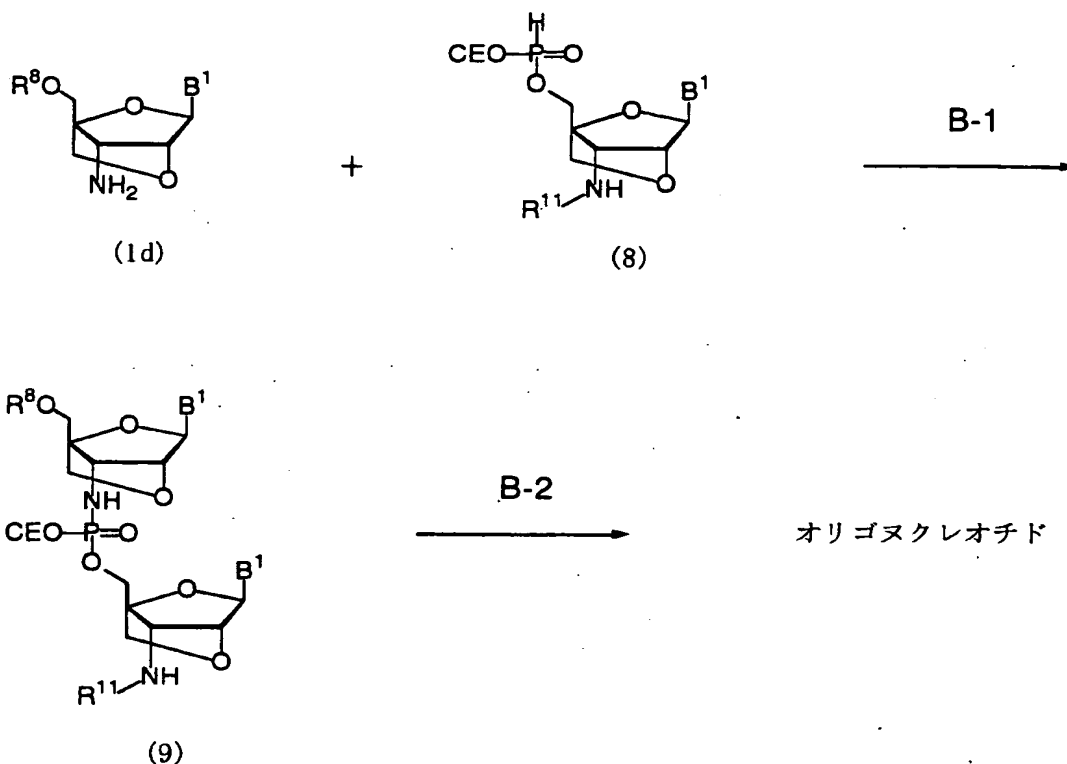
【0122】

本発明の化合物（1）を用い、以下に述べるB法により、3'位の窒素原子と5'位の酸素原子をリン酸で結合させたN3'-P5'型のオリゴヌクレオチドを合成することができる。

【0123】

【化 7】

B 法



上記工程表中、 $B^1$  及び  $R^8$  は、前述と同意義であるが、式 (1d)  $B^1$  と式 (8) の  $B^1$  とは、同一又は異なってもよい。

【0124】

$R^{11}$  は、こはく酸 CPG (succinyl Controlled Pore Glass) 又はテンタゲル (Tentagel) のような、オリゴヌクレオチドの合成に通常用いられる樹脂を示す。

CEO は、2-シアノエトキシ基を示す。

【0125】

以下 B 法の各工程について、詳細に説明する。

【0126】

(B-1 工程)

本工程は、化合物 (1d) に化合物 (8) を反応させて、化合物 (9) を製造する、酸化的リン酸化反応 (oxidative phosphorylation coupling) であり、文献 (1) (Nucleic Acids Research, Vol. 23, No. 14, pp. 2661-2668, 1995)

と同様に行うことができる。

【0127】

なお、化合物(1d)は、A-8工程で得られる化合物(1c)において、5'位の水酸基が保護されており、かつ、塩基Bにアミノ基が存在する場合にはアミノ基が保護されている化合物である。

また、化合物(8)は、A-8工程で得られる化合物(1c)から文献(1)と同様にして合成できる化合物である。

【0128】

(B-2工程)

本工程は、B-1工程で得られる化合物(9)からオリゴヌクレオチドを合成する工程である。

【0129】

まず、前述のA-7工程の方法を用いて化合物(9)の水酸基の保護基 $R^8$ を脱保護し、続いて、文献(1)と同様にしてリン酸化を行ない、さらに、上記B-1工程と同様にして化合物(1d)を反応させ、このサイクルを繰り返すことによってオリゴヌクレオチドを合成することができる。

【0130】

得られる非天然型修飾ヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドの鎖長は、ヌクレオシド単位として、通常、2乃至50個であり、好適には、10乃至30個である。

【0131】

得られる非天然型修飾ヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、各種ヌクレアーゼに対して分解されにくく、生体への投与後、長時間生体内に存在することができる。また、例えば、mRNAと安定な二重鎖を形成して、病因となるタンパク質の生合成を阻害したり、ゲノム中の二重鎖DNAとの間で三重鎖を形成して、mRNAへの転写を阻害したり、細胞に感染したウイルスの増殖を抑えることもできる。

【0132】

従って、これらの非天然型修飾ヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、抗

腫瘍剤、抗ウイルス剤をはじめ、特定遺伝子の働きを阻害し、疾病を治療する医薬品として期待される。

【0133】

本発明の非天然型修飾ヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、例えば、緩衝剤および／または安定剤等の慣用の助剤を配合して非経口投与製剤としたり、リポソーム製剤とすることができる。また、局所用の製剤としては、慣用の医薬用担体を配合して軟膏、クリーム、液剤または膏薬等に調剤できる。

【0134】

本発明の非天然型修飾ヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドのハイブリッド形成能及びヌクレアーゼ酵素耐性は、以下の方法に従い、調べることができる。

【0135】

(試験方法1)

得られた種々の非天然型修飾オリゴヌクレオチドをアンチセンス鎖とし、天然のDNAあるいはRNAからなるセンス鎖とをアニーリング処理したものの融解温度( $T_m$ 値)を測定することにより、本発明のオリゴヌクレオチド類縁体の相補DNAおよびRNAに対するハイブリッド形成能を調べる。

【0136】

最終濃度をそれぞれ、NaCl 100 mM、リン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.2) 10 mM、アンチセンス鎖 4  $\mu$ M、センス鎖 4  $\mu$ Mとしたサンプル溶液(500  $\mu$ L)を沸騰水中に浴し、10時間をかけてゆっくり室温まで冷却する。分光光度計(例えば、島津 UV-2100PC)のセル室内に結露防止のために窒素気流を通し、サンプル溶液を5℃まで徐々に冷却し、さらに、20分間5℃に保った後、測定を開始する。サンプル温度は90℃まで毎分0.2℃ずつ上昇させ、0.1℃間隔で260 nmにおける紫外線吸収を測定する。

【0137】

なお、温度上昇とともにサンプル濃度が変化するのを防ぐため、セルは、蓋付きのものを用い、サンプル溶液表面に鉱油を1滴添加して測定する。

【0138】

(試験方法2)ヌクレアーゼ酵素耐性の測定

15分間37℃に保ったオリゴヌクレオチドのバッファー溶液(10 $\mu$ M, 400 $\mu$ l)に蛇毒ホスホジエステラーゼのバッファー溶液(0.003U/ml, 400 $\mu$ l)を混合する。混合溶液を37℃に保った石英セル(800 $\mu$ l)に入れ、オリゴヌクレオチドの分解による紫外部吸収(260nm)の増加をSHIMADZU UV-2100PCを用いて経時的に測定する。用いたバッファーの組成はTris-HCl(pH8.6)0.1M、NaCl 0.1M、MgCl<sub>2</sub> 14mMであり測定前に十分に脱気する。

## 【0139】

半減期( $t_{1/2}$ )は、測定開始時( $t=0$ )及び紫外部吸収の増加が認められなくなった点のUV吸収の平均値を示す時間として、天然型オリゴヌクレオチドと比較する。

## 【0140】

## (試験方法3) 抗HIV活性の測定

本発明の化合物の抗HIV活性の測定は、R.Pauwel等の方法(J. Virological Method 20, p. 309-321(1988))に準じて行なう。すなわち、MT-4細胞を遠心分離(1000 $\times$ g, 5分)し得られる細胞沈査を、血清を含まないRPMI-1640培地に懸濁した細胞浮遊液に、HIVを接種して、37℃で1時間培養した後、10%牛胎児血清添加RPMI-1640培地(以下、血清培地という)に加えて洗浄、遠心分離(1000 $\times$ g, 5分)する。このようにして得られるHIV感染細胞及びHIV非感染細胞をそれぞれ $4 \times 10^5$ /mlになるように血清培地に懸濁し、組織培養用の96穴マルチウェルの各ウェルに100 $\mu$ lずつ分注する。これらの各ウェルに100 $\mu$ lずつ分注した後、5%炭酸ガスの存在下で、37℃で5日間静置培養する。同様に化合物無添加のHIV感染細胞及びHIV非感染細胞を培養する。培養終了後、MTT(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド)を用いて生細胞を測定し、化合物添加における細胞傷害抑制活性(抗HIV活性)を求める。なお、細胞液および接種ウイルス液にはマイコプラズマを含まないことを確認する。

## 【0141】

化合物無添加のHIV非感染細胞の細胞傷害抑制活性を100%とし、化合物

無添加のHIV感染細胞の細胞傷害抑制活性を0%として、HIV感染細胞に対して50%の細胞傷害抑制活性を示す化合物濃度 ( $EC_{50}$ ) を求める。

【0142】

以下に、実施例及び参考例を示し、本発明をさらに詳細に説明するが、本発明の範囲は、これらに限定されるものではない。

【0143】

【実施例】

【0144】

【実施例1】

3'-アジド-5'-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (例示化合物番号2-48)

参考例5の化合物 (200 mg, 0.27 mmol) のメタノール溶液 (7 ml) に 0℃で炭酸カリウム (41 mg, 0.29 mmol) を加え、室温で 4.5時間攪拌した後、さらに、炭酸カリウム (34 mg, 0.25 mmol) を加え 23 時間攪拌した。メタノールを留去後、残渣に水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル:n-ヘキサン = 2:1) により精製し、目的物を無色結晶 (142 mg, 0.27 mmol, 100%) として得た。

mp 93-95℃.

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 3169, 3047, 2956, 2888, 2859, 2117, 1696, 1275, 1109  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.12 (9H, s), 1.65 (3H, s), 3.78, 3.84 (2H, AB, J = 8 Hz), 3.90, 4.08 (2H, AB, J = 12.5 Hz), 4.02 (1H, s), 4.67 (1H, s), 5.67 (1H, s), 7.54 (1H, s), 7.39-7.48 (6H, m), 7.67-7.71 (4H, m), 8.46 (1H, br s).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 12.3, 19.5, 27.0, 58.7, 60.3, 71.4, 77.2, 78.6, 87.2, 90.1, 110.8, 128.0, 130.1, 130.2, 131.7, 132.3, 133.7, 135.1, 135.4, 149.6, 163.6.

【0145】

【実施例 2】

3'-アジド-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (例示化合物  
番号2-14)

窒素気流下、実施例 1 の化合物 (140 mg, 0.26 mmol) の無水テトラヒドロフラン溶液 (5 ml) に、テトラブチルアンモニウムフルオリド (1.0 M in THF, 290  $\mu$ l, 0.29 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル : n-ヘキサン = 25 : 1) により精製し、目的物を白色粉末 (65.7 mg, 0.22 mmol, 85%) として得た。

mp 94-96°C.

IR  $\nu$  max (KBr): 3163, 3046, 2118, 1692, 1468, 1273, 1062  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 1.89 (3H, s), 3.76, 3.86 (2H, AB,  $J = 8$  Hz), 3.85, 3.95 (2H, AB,  $J = 13$  Hz), 4.03 (1H, s), 4.58 (1H, s), 5.58 (1H, s), 7.70 (1H, s).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 12.8, 57.3, 61.2, 72.4, 79.8, 88.3, 91.0, 110.8, 136.3, 151.5, 166.1.

【0146】

【実施例 3】

3'-アミノ-3'-デオキシ-2'-0,4'-C-メチレン-5-メチルウリジン (例示化合物  
番号2-4)

水素気流下、10%パラジウム炭素 (28 mg) の無水テトラヒドロフラン溶液 (5 ml) に、実施例 2 の化合物 (64 mg, 0.22 mmol) のエタノール溶液 (3 ml) を加え、室温で 0.5 時間攪拌した。反応溶液を濾過後、溶媒留去して、目的物を白色粉末 (59 mg, 0.22 mmol, 100%) として得た。

mp 243-246°C.

IR  $\nu$  max (KBr): 3459, 3365, 1699, 1447, 1273, 1054  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 1.83 (3H, s), 3.62 (1H, s), 3.92, 4.14 (2H, AB,  $J = 8$  Hz), 4.24 (2H, s), 4.54 (1H, s), 5.97 (1H, s), 7.90 (1H, s).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )  $\delta$ : 12.8, 54.2, 57.2, 71.6, 81.4, 91.1, 109.5, 150.8, 164.3.

【0147】

【参考例】

【0148】

【参考例 1】

3-アジド-3-デオキシ-4-ヒドロキシメチル-1,2-0-イソプロピリデン- $\alpha$ -D-リボフラノース

文献 (Surzhykov S.A., Krayevsky A.A, Nucleosides Nucleotides, 13, 2283-2305 (1994)) に従い調製した3-アジド-4-ベンゾイルオキシメチル-5-0-ベンゾイル-3-デオキシ-1,2-0-イソプロピリデン- $\alpha$ -D-リボフラノース (4.13 g, 9.15 mmol) のメタノール溶液 (85 ml) に 0℃で炭酸カリウム (380 mg, 2.75 mmol)、水 (15 ml) を加え、同温で 4.5時間攪拌した。0℃下、10%塩酸で中和し、メタノールを留去した。残渣に水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒留去し、得られた白色固体を、冷n-ヘキサンで洗浄して、目的物を白色粉末 (1.93 g, 7.87 mmol, 86%) として得た。

mp 113-115℃ (トルエン)。

IR  $\nu$  max (KBr): 3460, 3417, 2989, 2951, 2907, 2111  $\text{cm}^{-1}$ 。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.62 (3H, s), 1.35 (3H, s) 2.65 (2H, br s), 3.81, 3.65 (2H, AB, J = 12 Hz), 3.59, 4.00 (2H, AB, J = 12.5 Hz), 4.28 (1H, d, J = 5.5 Hz), 4.82 (1H, dd, J = 4 Hz, 5.5 Hz), 5.85 (1H, d, J = 4 Hz)。

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 25.7, 26.2, 61.9, 62.1, 63.2, 79.9, 87.3, 104.4, 113.6。

【0149】

【参考例 2】

3-アジド-5-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3-デオキシ-4-ヒドロキシメチル-1,2-0-イソプロピリデン- $\alpha$ -D-リボフラノース

窒素気流下、参考例 1 の化合物 (2.56 g, 10.5 mmol) の無水塩化メチレン溶液 (73 ml) に、0℃で、トリエチルアミン (3.5g, 4.82 ml, 34.6 mmol)、塩化t-ブチルジフェニルシラン (9.75g, 9.22 ml, 35.46 mmol) を加え、室温で 2

4 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：n-ヘキサン = 1：6）により精製し、目的物を白色粉末（3.13 g, 6.47 mmol, 62%）として得た。

mp 99.5-100.5 °C (n-ヘキサン)。

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 3504, 2936, 2852, 2111  $\text{cm}^{-1}$ 。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.07 (9H, s), 1.36 (3H, s), 1.62 (3H, s), 3.62, 3.92 (2H, AB,  $J = 12$  Hz), 4.38 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 4.84 (1H, dd,  $J = 4$  Hz, 5.5 Hz), 3.82, 3.70 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.84 (1H, dd,  $J = 4$  Hz, 5.5 Hz), 5.86 (1H, d,  $J = 4$  Hz), 7.36-7.44 (6H, m), 7.64-7.67 (4H, m)。

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.2, 26.1, 26.3, 26.8, 62.2, 62.3, 65.2, 80.4, 88.0, 104.5, 113.7, 127.7, 127.8, 129.8, 129.9, 132.7, 132.8, 135.5。

【0150】

【参考例 3】

3-アジド-5-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3-デオキシ-4-(p-トルエンスルホニルオキシメチル)-1,2-0-イソプロピリデン- $\alpha$ -D-リボフラノース

窒素気流下、0 °C で、参考例 2 の化合物（100 mg, 0.21 mmol）の無水塩化メチレン溶液（2 ml）に、トリエチルアミン（137 mg, 180  $\mu\text{l}$ , 1.29 mmol）、塩化p-トルエンスルホン（63.3 mg, 0.33 mmol）、4-ジメチルアミノピリジン（4 mg, 0.03 mmol）を加え、室温で 14 時間攪拌した。反応溶液に飽和重曹水を加え、酢酸エチルで抽出し、飽和食塩水で洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：n-ヘキサン = 1：6）により精製し、目的物を白色粉末（130 mg, 0.20 mmol, 98%）として得た。

mp 122-124°C（酢酸エチル-n-ヘキサン）。

IR  $\nu_{\max}$  (KBr): 3069, 2935, 2114, 1366, 1183, 1109  $\text{cm}^{-1}$ 。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.03 (9H, s), 1.27 (3H, s), 1.31 (3H, s), 2.41 (3H, s), 3.60, 3.72 (2H, AB,  $J = 10.5$  Hz), 4.33, 4.40 (2H, AB,  $J = 10$  Hz), 4.55 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz), 5.00 (1H, dd,  $J = 3.7$  Hz, 5.5 Hz), 5.82 (1H,

d,  $J = 3.7$  Hz), 7.23 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.36-7.45 (6H, m), 7.61-7.63 (4H, m), 7.72 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.1, 21.5, 25.9, 26.0, 26.7, 63.1, 64.7, 68.9, 80.1, 85.6, 104.4, 113.8, 127.8, 128.0, 129.6, 129.9, 132.4, 132.5, 135.4, 144.6.

【0151】

【参考例4】

3-アジド-5-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3-デオキシ-4-(p-トルエンシルホニルオキシメチル)-1,2-ジ-0-アセチル-D-リボフラノース

窒素気流下、参考例3の化合物 (230 mg, 0.36 mmol) の酢酸溶液 (3.5 ml) に、無水酢酸 (406 mg, 375  $\mu\text{l}$ , 3.98 mmol)、濃硫酸 (6.5 mg, 3.5  $\mu\text{l}$ , 0.066 mmol) を加え、室温で5時間攪拌した。反応溶液を氷水に加え、30分間攪拌し、飽和食塩水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル:n-ヘキサン = 4:1) により精製し、 $\alpha$ : $\beta$  = 約3:7の混合物である目的物を無色油状物質 (230 mg, 0.34 mmol, 94%) として得た。

IR  $\nu_{\text{max}}$  (KBr): 3048, 2935, 2864, 2117, 1756  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) [ $\beta$ 体]  $\delta$ : 1.06 (9H, s), 1.83 (3H, s), 2.08 (3H, s), 2.40 (3H, s), 3.54, 3.80 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.12, 4.26 (2H, AB,  $J = 10$  Hz), 4.37 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz), 5.32 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz), 5.98 (1H, s), 7.29 (2H, d,  $J = 8$  Hz), 7.37-7.46 (6H, m), 7.59-7.65 (4H, m), 7.76 (2H, d,  $J = 8$  Hz).

[ $\alpha$ 体]  $\delta$ : 1.05 (9H, s), 2.02 (3H, s), 2.13 (3H, s), 2.39 (3H, s), 3.51, 3.68 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.12, 4.21 (2H, AB,  $J = 10.5$  Hz), 4.40 (1H, d,  $J = 7$  Hz), 5.32 (1H, m), 6.31 (1H, d,  $J = 4.5$  Hz), 7.25 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz), 7.37-7.46 (6H, m), 7.59-7.65 (4H, m), 7.70 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 19.0, 19.1, 20.0, 20.6, 20.9, 21.1, 21.5, 26.6, 61.0, 63.2, 65.1, 68.4, 68.8, 72.2, 75.5, 85.4, 86.5, 93.6, 96.0, 97.3, 127.8, 127.9, 128.0, 129.6, 129.9, 130.0, 132.0, 132.3, 132.4, 135.4, 144.7,

168.5, 169.2, 169.3, 169.4.

【0152】

【参考例 5】

2'-0-アセチル-3'-アジド-5'-0-tert-ブチルジフェニルシリル-3'-デオキシ-4'-  
(p-トルエンスルホニルオキシメチル)-5-メチルウリジン

窒素気流下、0℃で参考例4の化合物(300 mg, 0.44 mmol)の無水1,2-ジクロロエタン溶液(6 ml)に、0,0'-ビス(トリメチルシリル)チミン(240 mg, 0.93 mmol)、四塩化スズ(253 mg, 114  $\mu$ l, 0.97 mmol)を加え、室温で43時間攪拌した。氷冷下、ジクロロメタンで希釈後、反応溶液に飽和重曹水を加え、ジクロロメタンで抽出した。飽和食塩水で洗浄後、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル:n-ヘキサン = 1:2-1:0)により精製し、目的物を白色粉末(300 mg, 0.4 mmol, 91%)として得た。

mp 158.5-159.5℃(酢酸エチル-n-ヘキサン)。

IR  $\nu$  max (KBr): 3185, 3067, 2956, 2116, 1752, 1695, 1369, 1100  $\text{cm}^{-1}$ 。

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.11 (9H, s), 1.59 (3H, s), 2.15 (3H, s), 2.41 (3H, s), 3.80, 3.84 (2H, AB,  $J = 11.5$  Hz), 4.04, 4.10 (2H, AB,  $J = 11$  Hz), 4.47 (1H, d,  $J = 6$  Hz), 5.53 (1H, t,  $J = 6.5$  Hz), 5.94 (1H, d,  $J = 7$  Hz), 7.18 (1H, s), 7.28 (2H, d,  $J = 7.5$  Hz), 7.37-7.47 (6H, m), 7.61-7.65 (4H, m), 7.71 (2H, d,  $J = 7.5$  Hz), 9.68 (1H, br s)。

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11.8, 19.2, 20.9, 21.5, 26.9, 62.3, 65.9, 68.3, 74.2, 84.8, 86.1, 118.9, 127.9, 128.0, 129.7, 130.1, 131.5, 132.2, 135.2, 135.3, 135.5, 145.0, 150.4, 163.6, 169.9。

【0153】

【発明の効果】

本発明の新規なビシクロヌクレオシド類縁体は、抗エイズ剤として有用である。また、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定な非天然型の修飾オリゴヌクレオチドを製造するための中間体として有用である。

【書類名】要約書

【要約】

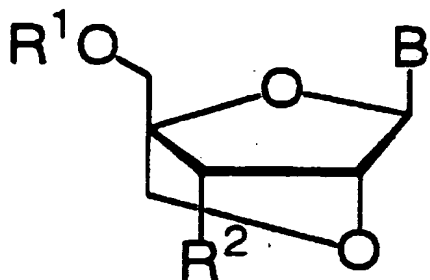
【課題】

抗エイズ活性を有する新規な修飾ヌクレオシド類縁体を見出すこと、及び、優れたアンチセンス又はアンチジーン活性を有し、かつ、生体内で安定な、非天然型の修飾オリゴヌクレオチドを製造するための中間体を提供することを目的とする。

【解決手段】

下記の構造式（１）で示される化合物又はその薬理上許容される塩。

【化１】



（１）

R<sup>1</sup>は、同一又は異なって、水素原子又は水酸基の保護基を示し、

R<sup>2</sup>は、アジド基又は保護されていてもよいアミノ基を示し、

Bは、下記α群から選択される置換基を有していてもよい

プリン-9-イル又はピリミジン-1-イル基を示す。

（α群）

ハロゲン原子、炭素数1乃至6個のアルキル基、水酸基、メルカプト基、アミノ基等。

【選択図】なし。

認定・付加情報

特許出願の番号	平成11年 特許願 第207170号
受付番号	59900701445
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成11年 7月26日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成11年 7月22日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000001856]

1. 変更年月日 1990年 8月15日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都中央区日本橋本町3丁目5番1号  
氏 名 三共株式会社